连香树水提物和乙醇提取物的体外抗氧化研究

杨添雁[1]，沙秀芬[1]，魏琴[2]，李群[1*]

（1.四川师范大学 生命科学学院，四川 成都 610101；2.宜宾学院发酵资源与应用四川省高校重点实验室，四川 宜宾 644000）

摘要:研究连香树水提物和乙醇提取物的主要成分和抗氧化作用，为其进一步开发利用提供理论依据。通过水提和醇提两种方法提取连香树叶片中的代谢物并测定其主要成分，通过体外抗氧化实验，即清除羟自由基(·OH)、DPPH 自由基(DPPH·)、超氧阴离子(O_2^-)和还原铁离子(Fe^{3+})的能力等四个指标来评价其抗氧化作用。结果表明：连香树水提物和乙醇提取物中均含有山萘酚。此外，水提物中还含有苜蓿素和异槲皮苷等黄酮类物质；乙醇提取物中还含有柚皮素和槲皮素 3-O-β-D-葡萄糖苷等黄酮类物质。水提物和乙醇提取物均有清除羟自由基、DPPH 自由基、超氧阴离子及还原三价铁离子的能力。抗氧化的作用随提取物浓度的增大而增强，其中清除超氧阴离子（IC_{50}值分别为 0.092 mg·mL^{-1}和 0.002 mg·mL^{-1}）的能力强于阳性对照 Vc（IC_{50}值为 0.241 mg·mL^{-1}）且铁离子还原力的 IC_{50}值（水提物的 IC_{50}值为 0.014 mg·mL^{-1}；乙醇提取物的 IC_{50}值为 0.001 mg·mL^{-1}）相对较小，说明其总抗氧化活性较强。由此可见，连香树水提物和乙醇提取物均具有良好的抗氧化作用，可作为一种潜在的天然抗氧化剂。

关键词：连香树，水提物，乙醇提取物，抗氧化作用

中图分类号：　　　　文献标识码：A　　　文章编号：201710016

DOI：10.11931/guihaia.gxzw201710016

Study on the in vitro antioxidant activity of aqueous extract and ethanol extract of *Cercidiphyllum japonicum*

YANG Tian-Yan[1], SHA Xiu-Fen[1], WEI Qin[2], LI Qun[1*]

(1. *College of Life Sciences, Sichuan Normal University*, Chengdu 610101, Sichuan; 2. *Key Lab of Aromatic Plant Resources Exploitation and Utilization in Sichuan Higher Education*, Yibin 644000，Sichuan)

Abstract: Study on the main components and antioxidation of *C. japonicum* aqueous extract and ethanol extract. The study provides a theoretical basis for the further development and utilization of *C. japonicum*. The secondary metabolites of *C. japonicum* leaf were extracted by aqueous extraction and ethanol extraction and the main components of aqueous extract and ethanol extract of *C. japonicum* were determined. The antioxidant effect of aqueous extract and ethanol extract of *C. japonicum* was evaluated by in vitro antioxidant assays, such as the ability of scavenging hydroxyl radical (·OH), the ability of scavenging DPPH free radical (DPPH·), the ability of scavenging superoxide anion (O_2^-) and the ability of reducing iron ion (Fe^{3+}). The results show that the main components of the aqueous extract and the ethanol extract of *C. japonicum* both contain kaempferol. In addition,

[1]收稿日期：2017-10-13

基金项目：香料植物资源开发与利用四川省高校重点实验室开放基金资助项目（2016XLZ006）[Supported by key Lab of Aromatic Plant Resources Exploitation and Utilization in Sichuan Higher Education(No. 2016XLZ006)]

第一作者:杨添雁（1994.7-），女，云南红河州人，研究生在读，主要研究方向：细胞工程，（E-mail）502650413@qq.com。

*通讯作者:李群，教授，博士，主要研究方向：细胞工程与植物资源等，（E-mail）619750304@qq.com。

the main components of the aqueous extract of *C. japonicum* also contains flavonoids such as alfalfa and isoquercetin, and the main components of the ethanol extract of *C. japonicum* also contains flavonoids such as naringin and quercetin 3-o- β -dglucoside. The aqueous extract and the ethanol extract of *C. japonicum* both had the ability of scavenging hydroxyl radicals, DPPH free radicals, superoxide anions and the ability of reducing iron ion. The antioxidant effects of the aqueous extract and the ethanol extract of *C. japonicum* increased with the increasing concentrations, which was dose-dependent. Specifically, the ability of the aqueous extract and the ethanol extract of *C. japonicum* to scavenging superoxide anion (IC_{50} values were 0.092 $mg·mL^{-1}$ and 0.002 $mg·mL^{-1}$ respectively) was stronger than that of positive control Vc (IC_{50} value was 0.241 $mg·mL^{-1}$). Furthermore, the IC_{50} value of the aqueous extract and the ethanol extract of *C. japonicum* on iron ion reducing power was relatively small (the IC_{50} value of the aqueous extract was 0.014 $mg·mL^{-1}$; the IC_{50} value of the ethanol extract was 0.001 $mg·mL^{-1}$). The result indicated that the total antioxidant activity of *C. japonicum* extracts were strong. This show that the aqueous extract and the ethanol extract of *C. japonicum* both had good antioxidant effect, and it can be used as a potential source of natural antioxidants.

Key words: *Cercidiphyllum japonicum*, aqueous extract, ethanol extract, antioxidant

连香树（*Cercidiphyllum japonicum*）别名山白果，是连香树科连香树属的一种古老稀有的落叶大乔木，被国家列为二级保护植物（姚连芳等，2005），主要分布在日本和我国四川西部和东南部、山西南部、湖北西部等海拔400~2500米的常绿和落叶阔叶混交林中（黄绍辉，2007）。连香树其味芳香，百米可闻。树姿高大雄伟，叶型对称美观（郭郢等，2004）。根、茎、叶均可作药用，特别是树皮煎水饮服，对治疗感冒、痢疾有特殊疗效（陈仲平，2005）。树皮和叶均含有鞣质，可提取烤胶（姚连芳等，2005）。因此，连香树具有较高的观赏价值和经济价值。目前对连香树的研究报道大多是关于通过组培、快速繁殖（麦苗苗，2006；袁丽洁，2008；陈荣珠，2012）等方法来恢复扩大其资源，而连香树次生代谢产物及其功能的开发等方面的研究还不够完整，特别是抗氧化、抗癌等方面的研究尤为少见。该文拟对连香树叶片次生代谢物的主要成分及成分的抗氧化作用情况做一探索。

天然植物抗氧化剂是一类无毒、安全的抗氧化剂，具有重要的生物活性（张泽生，2017）。它能有效清除机体受到氧化应激时产生的过多的自由基，使机体的氧化还原系统处于动态平衡（温朋飞，2017）。研究表明，传统合成的抗氧化剂如叔丁基对羟基茴香醚（BHA）、二丁基羟基甲苯（BHT）等本身可能具有潜在毒性，对人体造成危害，所以寻找低毒、安全、高效的天然植物抗氧化剂成为了一种必然趋势（熊皓平，2001）。目前，许多植物的提取物均具有良好的抗氧化作用，且不同方法、不同溶剂的提取物其抗氧化作用不同（李海亮，2017；袁保刚，2011；潘争红；2016）。该文旨在以连香树叶片为试材，通过水提和醇提两种方法获取提取液并测定其中的主要成分，分别对两种提取液进行体外测定羟自由基(·OH)、DPPH自由基(DPPH·)和超氧阴离子($O2^-$)三种自由基的清除实验和三价铁离子(Fe^{3+})的还原力来研究连香树叶片提取物的抗氧化作用，为进一步开发利用提供依据。

1. 材料与仪器

1.1 样品采集与制备

连香树（*Cercidiphyllum japonicum*）：于2017年7月中旬采自海拔1800米的四川省广元市旺苍县盐井河采育场，经四川师范大学生命科学学院马丹炜教授鉴定确认为连香树（*Cercidiphyllum japonicum*）。在实验室将叶子摘取下来后粉碎至粉末，备用。

1.2 试剂

硫酸亚铁（$FeSO_4$），过氧化氢（H_2O_2, 0.3%），三羟甲基氨基甲烷(Tris)，盐酸（HCl），邻苯三酚（1,2,3-Trihydroxybenzene），1,1-二苯基-2-苦苯肼自由（1，1-Diphenyl-2-picryhydrazyl, DPPH），铁氰化钾（$K_3Fe(CN)_6$），磷酸二氢钠（NaH_2PO_4），磷酸氢二钠（Na_2HPO_4），氯化钠（NaCl），三氯乙酸（TCA），氯化铁（$FeCl_3$），抗坏血酸（Vc），二甲基亚砜（DMSO），无水乙醇，95%乙醇。

1.3　　主要仪器

AR224CN 电子天平，上海奥赛斯仪器有限公司；XH-300A 祥皓电脑超声波组合合成/萃取仪，北京祥皓科技发展有限公司；RE-52CS 旋转蒸发仪，上海雅荣生化设备仪器有限公司；CHASHB-3A 循环水式多用真空泵，北京恒奥德科技有限公司；HH-4 恒温水浴锅，江苏金城国胜实验仪器厂；TGL-16B 离心机，上海安亭科技仪器厂；多功能细胞分析仪(MD/Spectra Max M2)；老本行 400Y 粉碎机；色质联用仪（Waters XevoG2-XS Tof）。

2. 方法

2.1　　提取方法

2.1.1　连香树水提物的制备

水煎法（史文青，2012），称取 1150 g 连香树叶粉末，加入蒸馏水 3 200 mL（1:3），浸泡 8 小时后文火煎煮 4 小时，过滤得水提取液 500 mL，得率为 15.62%。

2.1.2　连香树乙醇提取物的制备

参照焦胜敏（2014）和唐军等（2011）的方法并略做改进，称取煮过后的连香树叶粉末 50 g，加入 300 mL80%乙醇（料液比 1:6），温度 60℃，超声波功率为 302 W，超声时间 30 min。按上述方法重复 5 次后合并提取液过滤，转至旋转蒸发仪浓缩，得浸膏 20 g，得率为 8%。

2.2　　连香树水提物和乙醇提取物成分的测定

采用超高压液相色谱-飞行时间质谱仪（UPLC-TOF/MS）联用技术对连香树水提物和连香树乙醇提取物进行成分分析。色谱和质谱条件参照孙国东等人的（2017）实验方法，质量扫描范围 0~800 m/z，数据采集时间 42 min。

2.3　　抗氧化作用测定

2.3.1　羟自由基(·OH)清除能力

用蒸馏水配制质量终浓度为 1.6 $mg·mL^{-1}$，0.8 $mg·mL^{-1}$，0.4 $mg·mL^{-1}$，0.2 $mg·mL^{-1}$，0.1 $mg·mL^{-1}$ 的连香树水提物和 0.016 $mg·mL^{-1}$，0.008 $mg·mL^{-1}$，0.004 $mg·mL^{-1}$，0.002 $mg·mL^{-1}$，0.001 $mg·mL^{-1}$ 的 Vc 阳性对照溶液；用 DMSO 配制质量终浓度为 0.16 $mg·mL^{-1}$，0.08 $mg·mL^{-1}$，0.04 $mg·mL^{-1}$，0.02 $mg·mL^{-1}$，0.01 $mg·mL^{-1}$ 的连香树乙醇提取物。参照任秋蓉等人（2017）的水杨酸法测定连香树提取物对羟自由基(·OH) 的清除作用。

2.3.2　DPPH 自由基清除能力

用蒸馏水配制质量终浓度为 0.8 $mg·mL^{-1}$，0.4 $mg·mL^{-1}$，0.2 $mg·mL^{-1}$，0.1 $mg·mL^{-1}$，0.05 $mg·mL^{-1}$ 的连香树水提物和 0.016 $mg·mL^{-1}$，0.008 $mg·mL^{-1}$，0.004 $mg·mL^{-1}$，0.002 $mg·mL^{-1}$，0.001 $mg·mL^{-1}$ 的 Vc 阳性对照溶液；用 DMSO 配制质量终浓度为 0.08 $mg·mL^{-1}$，0.04 $mg·mL^{-1}$，0.02 $mg·mL^{-1}$，0.01 $mg·mL^{-1}$，0.005 $mg·mL^{-1}$ 的连香树乙醇提取物。参照 Li et al（2012）和任秋蓉等（2017）文献中的 DPPH 法测定连香树提取物对 DPPH 自由基(DPPH·)的清除作用。

2.3.3　超氧阴离子(O_2^-)清除能力

用蒸馏水配制质量终浓度为 0.4 $mg·mL^{-1}$，0.2 $mg·mL^{-1}$，0.1 $mg·mL^{-1}$，0.05 $mg·mL^{-1}$，0.025 $mg·mL^{-1}$ 的连香树水提物和 3.2 $mg·mL^{-1}$，1.6 $mg·mL^{-1}$，0.8 $mg·mL^{-1}$，0.4 $mg·mL^{-1}$，0.2 $mg·mL^{-1}$ 的 Vc 阳性对照溶液；用 DMSO 配制质量终浓度为 0.008 $mg·mL^{-1}$，0.004 $mg·mL^{-1}$，0.002 $mg·mL^{-1}$，0.001 $mg·mL^{-1}$，0.005 $mg·mL^{-1}$ 的连香树乙醇提取物。按照任秋蓉

等（2017）文献中的邻苯三酚法测定连香树提取物对超氧阴离子(O_2^-)的清除作用。

2.3.4 铁离子（Fe^{3+}）还原力

用蒸馏水配制质量终浓度为 0.8 mg·mL^{-1}，0.4 mg·mL^{-1}，0.2 mg·mL^{-1}，0.1 mg·mL^{-1}，0.05 mg·mL^{-1} 的连香树水提物和 0.016 mg·mL^{-1}，0.008 mg·mL^{-1}，0.004 mg·mL^{-1}，0.002 mg·mL^{-1}，0.001 mg·mL^{-1} 的 Vc 阳性对照溶液；用 DMSO 配制质量终浓度为 0.08 mg·mL^{-1}，0.04 mg·mL^{-1}，0.02 mg·mL^{-1}，0.01 mg·mL^{-1}，0.005 mg·mL^{-1} 的连香树乙醇提取物。参照威建华等（2012）文献中的方法测定连香树提取物对铁离子（Fe^{3+}）的还原力，吸光度值越大，表示样品液的还原能力越强。

2.4 统计分析

采用 SPSS17.0 处理数据， LSD 法分析显著性差异，双变量法分析相关性，Probit 法分析 IC_{50} 值，使用 Microsoft Excel 2010 作图。

3. 结果与分析

3.1 连香树水提物和乙醇提取物成分分析

连香树水提物和连香树乙醇提取物经 UPLC-MS 测定后得两种样品的总离子流图和紫外图，分别见图 1 和图 2。在连香树水提物的总离子流图中，逐一分析了紫外吸收峰较强的物质，以 4.37 min 处的紫外吸收峰为例，该时间的分子量为 286.1069。在二级质谱中，生成的一系列碎片离子中含有 153 $[M+H-C_8H_6O_2]^+$，与孙国东等人（2017）文献中报道的山萘酚的二级碎片离子一致，因此推测该物质为 3,5,7,4'-四羟基黄酮即山萘酚，分子式为 $C_{15}H_{10}O_6$。同理，还分析出水提物中含有苜蓿素（王凤云等，2016）、异槲皮苷（黄辉强等 2009）等黄酮类物质；在连香树乙醇提取物的总离子流图中，以 3.754 min 处的紫外吸收峰为例，也发现了分子量为 286.1032 的化合物。在二级质谱中，根据孙国东等人（2017）文献中报道的山萘酚的二级碎片进行比对，发现了有 5 个相同的主要二级碎片离子，分别是 287 $[M+H]^+$, 241 $[M+H-CO-H_2O]^+$, 213 $[M+H-2CO-H_2O]^+$，165 $[M+H- C_7H_6O_2]^+$，153 $[M+H-C_8H_6O_2]^+$，可确认该物质为山萘酚。同理，还分析出了柚皮素（孙国东等，2017）、槲皮素 3-*O*-*β*-*D*-葡萄糖苷（孙国东等，2017）等黄酮类物质。

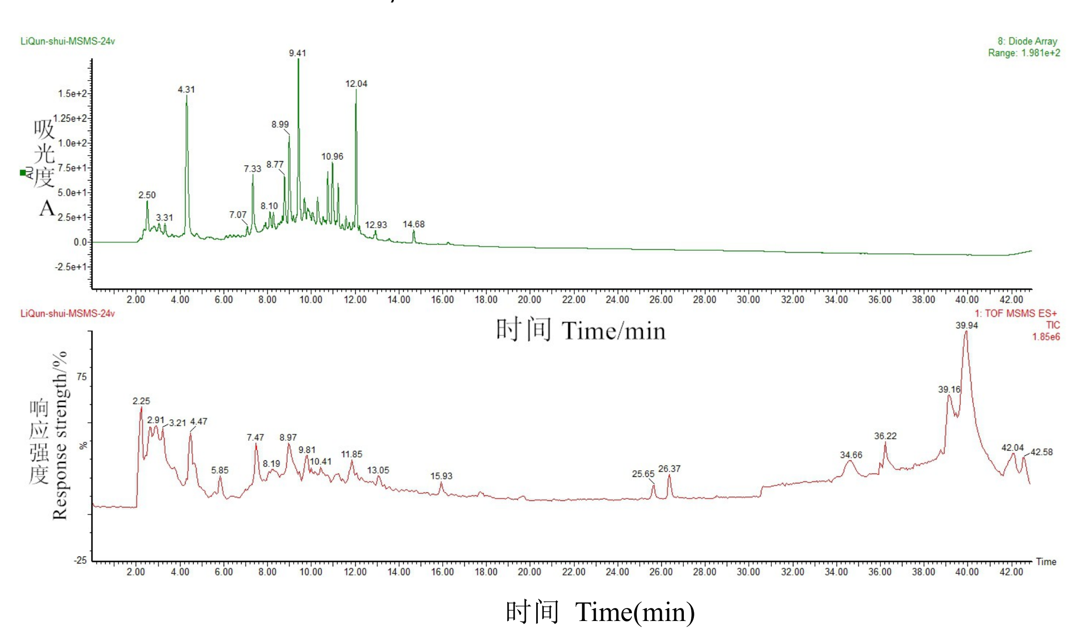


图 1 连香树水提物的总离子流图和紫外图

Fig.1 Total Ion flow and UV Diagram of aqueous extracts from *Cercidiphyllum japonicum*

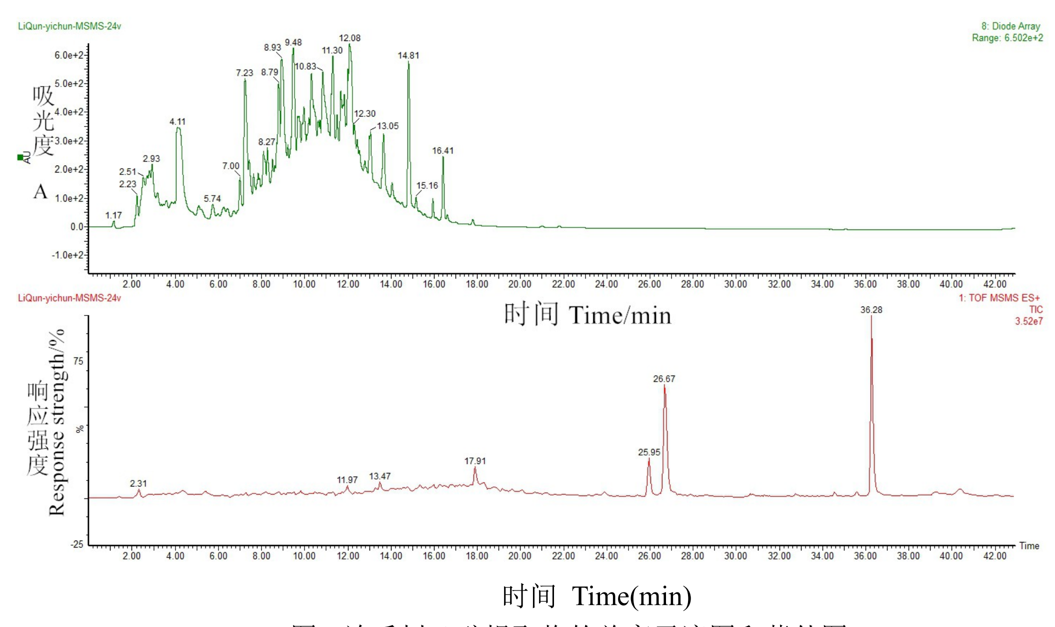


图 2 连香树乙醇提取物的总离子流图和紫外图

Fig.2 Total Ion flow and UV Diagram of ethanol extracts from *Cercidiphyllum japonicum*

3.2 连香树提取物对羟自由基(·OH)的清除作用

连香树提取物对羟自由基(·OH)的清除作用见图 3，图 4 和表 1。其中图 3，图 4 分别为连香树水提物和乙醇提取物的颜色反应图。从图 3、图 4 可以看出，随着浓度的逐渐减小，反应物颜色逐渐变深，表明两种提取物均有清除羟自由基的作用。另外，由表 1 可知，连香树水提物、Vc 及乙醇提取物对羟自由基(·OH)的清除率随浓度增大而增大。在低浓度时，羟自由基(·OH)的清除率仅有 6.46-6.88%的清除率，在高浓度时达到了 70%以上，最高为 89.11%，表明几种物质对羟自由基(·OH)的清除率呈浓度依赖性。经统计软件 SPSS17.0 进一步分析，连香树水提物的 P=0.000，r=0.994；Vc 的 P=0.026，r=0.921；乙醇提取物的 P=0.002，r=0.985，进一步说明连香树提取物的浓度与羟自由基(·OH)的清除率均呈极显著的正相关关系。

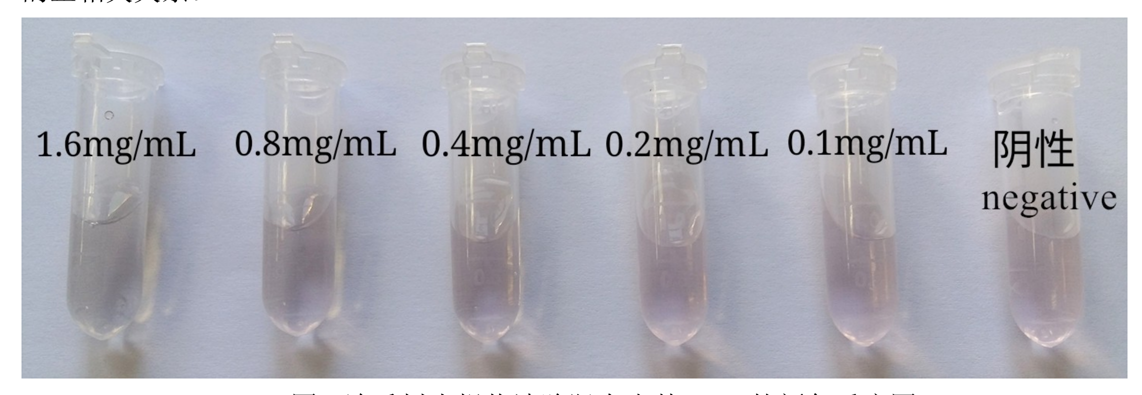


图 3 连香树水提物清除羟自由基(·OH)的颜色反应图

Fig.3 *Cercidiphyllum japonicum* aqueous extract scavenging hydroxyl free radical (· OH) color reaction diagram



图 4 连香树乙醇提取物清除羟自由基(·OH)的颜色反应图

Fig.4 *Cercidiphyllum japonicum* ethanol extract scavenging hydroxyl free radical (· OH) color reaction diagram

表 1 连香树提取物对羟自由基(·OH)的清除率

Table 1 *Cercidiphyllum japonicum* extracts on hydroxyl radical (· OH) scavenging rate

浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)	浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)	浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)
0.1	6.46	0.001	11.80	0.01	16.88
0.2	17.13	0.002	20.96	0.02	18.63
0.4	19.59	0.004	33.75	0.04	39.33
0.8	43.36	0.008	64.96	0.08	55.09
1.6	76.85	0.016	89.11	0.16	84.70

3.3 连香树提取物对 DPPH 自由基(DPPH·)的清除作用

连香树提取物对 DPPH 自由基(DPPH·)的清除作用如图 5，图 6 及表 2 所示。其中图 5 是连香树水提物清除 DPPH 自由基的颜色反应图，图 6 是连香树乙醇提取物清除 DPPH 自由基的颜色反应图。从颜色反应图可以看出，随浓度增大，反应物的颜色由紫色逐渐变为黄色，表明二者均有清除 DPPH 自由基的作用。由表 2 可知，连香树水提物、Vc 和连香树乙醇提取物对 DPPH 自由基(DPPH·)的清除率呈剂量依赖性。在低浓度时，三者对 DPPH 自由基(DPPH·)的清除率在 5.53-2.51%之间，在高浓度时均达到 90%以上。经统计软件 SPSS17.0 进一步分析，连香树水提物的 P=0.040，r=0.895；Vc 的 P=0.013，r=0.950；乙醇提取物的 P=0.016，r=0.944。三者的浓度与 DPPH 自由基(DPPH·)的清除率均呈显著的正相关关系。

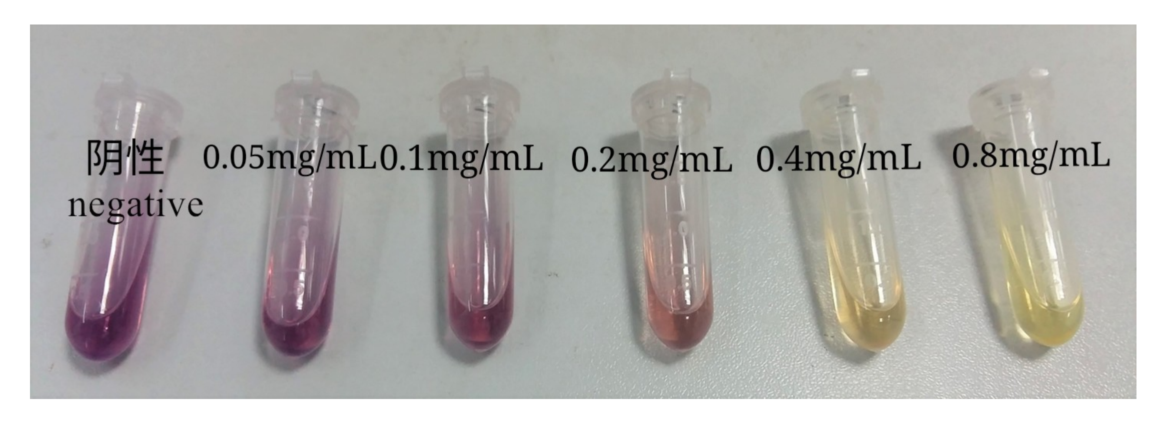


图 5 连香树水提取物清除 DPPH 自由基（DPPH·）的颜色反应图

Fig.5 *Cercidiphyllum japonicum* aqueous extract scavenging DPPH radical(DPPH·) color reaction diagram

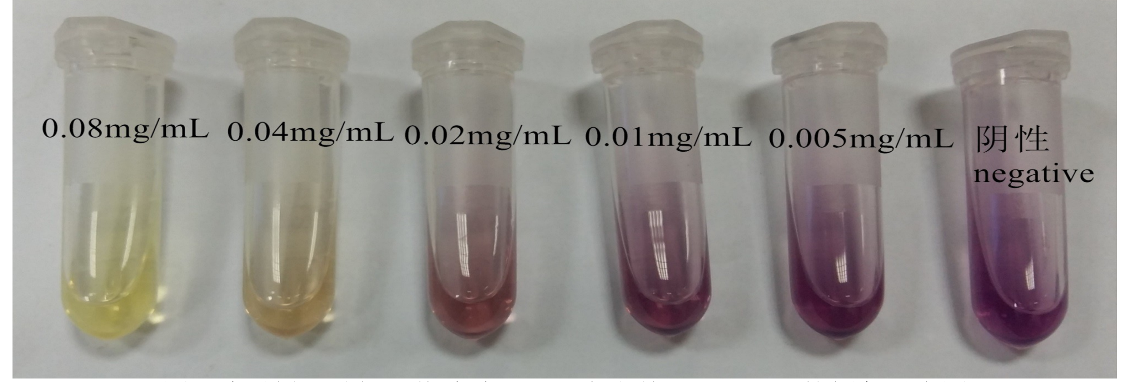


图 6 连香树乙醇提取物清除 DPPH 自由基（DPPH·）的颜色反应图

Fig.6 *Cercidiphyllum japonicum* ethanol extract scavenging DPPH radical(DPPH·) color reaction diagram

表 2 连香树提取物对 DPPH 自由基（DPPH·）的清除率

Table 2 *Cercidiphyllum japonicum* extracts on DPPH free radical (DPPH ·) scavenging rate

浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)	浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)	浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)
0.05	12.15	0.001	7.18	0.005	5.53
0.1	28.60	0.002	19.60	0.01	15.83
0.2	52.21	0.004	37.38	0.02	38.50
0.4	86.25	0.008	75.63	0.04	74.57
0.8	92.90	0.016	94.28	0.08	92.40

3.4 连香树提取物对超氧阴离子(O_2^-)的清除作用

连香树提取物对超氧阴离子(O_2^-)的清除作用见图 7、图 8、表 3。其中图 7 、图 8 为连香树提取物清除超氧阴离子(O_2^-)的颜色反应图。从图可以看出，随着浓度的增大，各浓度之间无明显颜色变化。但由表 3 可知，连香树水提物、Vc 和乙醇提取物均有清除超氧阴离子(O_2^-)的作用，清除率随浓度的增大而增大。当达到最高浓度时，三者的清除率在 77.21-87.48%范

围内。经统计软件 SPSS17.0 进一步分析得连香树水提物的 P=0.103，r=0.802，说明连香树水提物浓度与超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)的清除率呈正相关关系；连香树乙醇提取物的 P=0.040，r=0.895，Vc 的 P=0.013，r=0.952，表明二者的浓度与超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$)的清除率均呈显著的正相关关系。

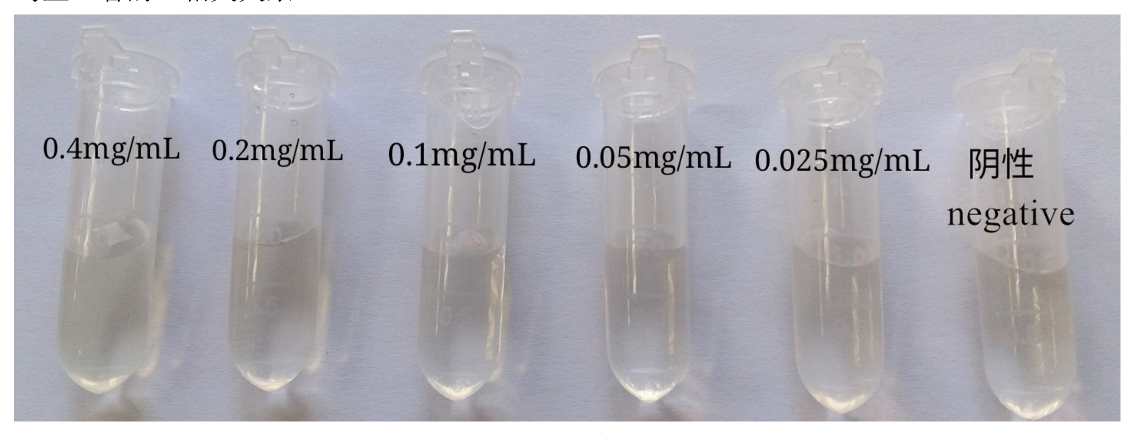


图 7 连香树水提物清除超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）的颜色反应图

Fig.7 *Cercidiphyllum japonicum* aqueous extract scavenging Superoxide anion($O_2^{\cdot-}$) color reaction diagram



图 8 连香树乙醇提取物清除超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）的颜色反应图

Fig.8 *Cercidiphyllum japonicum* ethanol extract scavenging Superoxide anion($O_2^{\cdot-}$) color reaction diagram

表 3 连香树提取物对超氧阴离子（$O_2^{\cdot-}$）的清除率

Table 3 *Cercidiphyllum japonicum* extracts on Superoxide anion($O_2^{\cdot-}$) scavenging rate

浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)	浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)	浓度 Concentration (mg·mL^{-1})	清除率 Scavenging rate (%)
0.025	10.75	0.2	48.56	0.0005	5.29
0.05	26.83	0.4	56.17	0.001	33.28
0.1	65.56	0.8	61.85	0.002	49.81
0.2	76.05	1.6	62.31	0.004	74.42
0.4	80.23	3.2	77.21	0.008	87.48

3.5 连香树提取物对铁离子(Fe^{3+})的还原力

连香树提取物对铁离子(Fe^{3+})的还原力结果如图 9，图 10，表 4。其中图 9 和图 10 分别为连香树水提物和乙醇提取物铁离子还原力的颜色反应图，浓度从左到右依次减小。可以看出，随浓度增大，呈黄色的三价铁离子逐渐被还原成绿色，表明二者均有还原三价铁离子的能力。由表 4 可得，连香树提取物的铁离子(Fe^{3+})还原力呈剂量依赖性增加。低浓度时三者的还原力在 0.017-0.066 之间，高浓度时在 0.235-0.397 之间。经统计软件 SPSS17.0 进一步分析，连香树水提物的 P=0.0000，r=0.997；连香树乙醇提取物的 P=0.0000，r=0.997；Vc 的 P=0.0000，r=0.999。三者的浓度与铁离子还原力均表现为极显著的正相关关系。

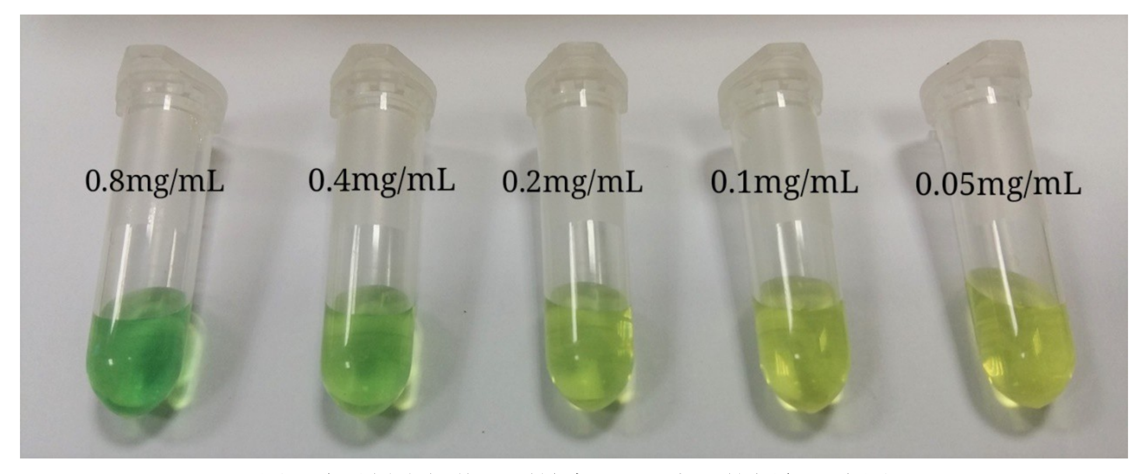


图 9 连香树水提物还原铁离子（Fe^{3+}）的颜色反应图

Fig.9 *Cercidiphyllum japonicum* aqueous extract reduced iron ion(Fe^{3+}) color reaction diagram

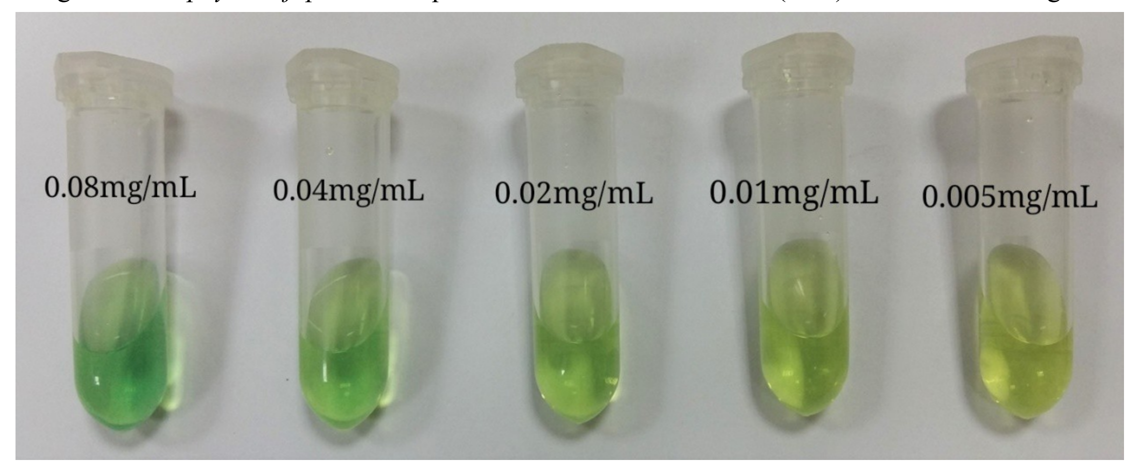


图 10 连香树乙醇提取物铁离子（Fe^{3+}）还原力的颜色反应图

Fig.10 *Cercidiphyllum japonicum* ethanol extract reduced iron ion(Fe^{3+}) color reaction diagram

表 4 连香树提取物对铁离子（Fe^{3+}）的还原力

Table 4 *Cercidiphyllum japonicum* extracts on iron (Fe^{3+}) reduction force

浓度 Concentration ($mg\cdot mL^{-1}$)	清除率 Scavenging rate (%)	浓度 Concentration ($mg\cdot mL^{-1}$)	清除率 Scavenging rate (%)	浓度 Concentration ($mg\cdot mL^{-1}$)	清除率 Scavenging rate (%)
0.05	0.033	0.001	0.017	0.005	0.066
0. 1	0.047	0.002	0.037	0.01	0.074

0. 2	0.081	0.004	0.060	0.02	0.116
0. 4	0.204	0.008	0.111	0.04	0.232
0. 8	0.360	0.016	0.235	0.08	0.397

3.6 连香树水提物、乙醇提取物和 Vc 抗氧化作用的比较

经统计软件 SPSS17.0 分析，连香树水提物、乙醇提取物和 Vc 的抗氧化作用四个指标的 IC_{50} 值见表 5。由表可知，连香树水提物和乙醇提取物的四个抗氧化指标分别与阳性 Vc 相比清除羟自由基、DPPH 自由基和还原铁离子的能力均弱于 Vc，而清除超氧阴离子的作用强于 Vc。经方差齐性检验后得两个实验组和阳性对照组的四个抗氧化指标的 p 值依次为 0.827，0.958，0.052，0.417，均大于 0.05，表明方差齐。进一步通过 LSD 单因素方差分析两个实验组与阳性对照组的清除率后可得四个抗氧化指标的 p 值分别为 0.802，0.914，0.783，0.565，均大于 0.05，说明连香树水提物组、乙醇提取物组和阳性对照组之间均无显著差异。

表 5 连香树提取物和 Vc 抗氧化作用的比较

Table 5 Comparison of antioxidant effects of extracts from *Cercidiphyllum japonicum* and Vc

	IC_{50} (mg·mL^{-1})			
	·OH	DPPH •	O_2^{-}	Fe^{3+}
连香树水提物 *C. japonicum* aqueous extract	0.839	0.168	0.092	0.014
连香树乙醇提取物 *C. japonicum* ethanol extract	0.055	0.024	0.002	0.001
抗坏血酸 Vc	0.005	0.005	0.241	0.0005

4. 讨论

本研究通过 UPLC-TOF/MS 技术，从连香树水提物和乙醇提取物中分别测定出三个黄酮类物质，即山萘酚、苜蓿素、异槲皮苷和山萘酚、柚皮素、槲皮素 3-O-β-D-葡萄糖苷，其中山萘酚这个黄酮类物质是两者共有的成分。这个共有成分在连香树树皮的乙醇浸膏中（王静荣等，1999）也被鉴定，表明山萘酚是连香树提取物的主要成分。大量研究表明，无论是植物精油（权美平等，2016）、植物水提物（曹晓虹等，2015）还是乙醇提取物（车金鑫等，2017）、（唐静月等，2017），其中主要的抗氧化物质大致为黄酮类、酚类、萜烯类和含氮化合物。本研究表明连香树水提物和乙醇提取物均具有抗氧化作用，可能是其提取物中多种黄酮类化合物共同作用的结果。

连香树所含化学成分丰富，其次生代谢产物的功能方面也具有重要的科研价值。本研究提取了连香树叶片中的次生代谢物，通过体外抗氧化实验研究其抗氧化作用，结果表明连香树提取物能有效清除羟自由基(·OH)、DPPH 自由基(DPPH·)、超氧阴离子(O_2^{-})和还原三价铁离子(Fe^{3+})。和阳性对照 Vc 相比，虽然仅有超氧阴离子(O_2^{-})的作用强于 Vc，但四个抗氧化指标的 IC_{50} 值与其它天然抗氧化剂（任秋蓉等，2017）（潘争红等，2016）（唐静月等，2017）相比都相对较小，说明连香树提取物具有较强的抗氧化作用，可以作为一种潜在的有效的天然抗氧化剂。

参考文献

CAO XH, REN X, ZHENG HY, 2015. Study of antioxidant activity in vitro of the water extract from Buckwheat[J]. Food Res Dev, (6):82-85. [曹晓虹，任贤，郑红艳，2015. 荞麦水提物体外抗氧化活性研究[J]. 食品研究与开发, (6):82-85.]

CHEN JX, SHI JL, LUO GW, 2017. Contents and antioxidant activities of polyphenol, flavonoid and resveratrol in vitis quinquangular Rehd[J]. J Northwest A & F Univ (Nat Sci ed), 45(7). [车金鑫，师俊玲，罗光武，2017. 广西罗城毛葡萄多酚、黄酮和白藜芦醇的组成特性及其抗氧化活性研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 45(7).]

CHEN RZ, SHEN YB, LUO XF et al, 2012. Research on tissue culture and plant regeneration of Cercidiphyllum japonicum [J]. Heilongjiang Agr Sci, (1):16-21. [陈荣珠，沈应柏，罗晓芳等，2012. 连香树组织培养及植株再生体系的初步研究[J]. 黑龙江农业科学, (1):16-21.]

CHEN ZP, 2005. *Cercidiphyllum japonicum* and its seedling technology[J]. Seedling Cultvation, (01):24-24.[陈仲平, 2005. 连香树及其育苗技术[J]. 林业实用技术, (01):24-24.]

GUO Y, Wang AM, 2004. Excellent rare leaf tree species with *Cercidiphyllum japonicum* [J]. Gard, (8):43-43. [郭郢，王安明，2004. 优良珍稀色叶树种连香树[J]. 园林, (8):43-43.]

HAUNG HQ, FENG YF, RUI W et al, 2009. Analysis of flavonoids in *Rhododendron mariae* by UPLC/Q-TOF –MS[J]. Chin J Chin Mat Med, 34(7):875-878. [黄辉强，冯毅凡，芮雯等，2009. 紫花杜鹃中黄酮类成分的 UPLC/Q-TO-MS 分析[J]. 中国中药杂志, 34(7):875-878.]

HUANG SH, 2007. Bioystematies study on the endangered trees Peeie Cercidiphyllum japonicum[D]. Nanjing Forest Univ. [黄绍辉，2007. 珍稀濒危植物连香树的物种生物学研究[D]. 南京林业大学.]

JIAO SM, 2014. Study on extraction of astragalin from Hamamelis mollis by ethanol-assisted extraction and antioxidation [J]. The Food Ind, (5):51-53. [焦胜敏，2014. 超声波辅助提取金缕梅紫云英苷及其体外抗氧化研究[J]. 食品工业, (5):51-53.]

LI HL, GAO X, XU FL，et al, 2017. Chemical composition and antioxidant activities of essential oil from paeonia lactiflora flowers[J]. J Northwest A & F Univ (Nat Sci ed), 45(5):204-210. [李海亮，高星，徐福利等，2017. 芍药花精油化学成分及其抗氧化活性[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 45(5):204-210.]

LI JF, LI F, JIN SN et al, 2017. Study on extraction process and antioxidative activity of total flavonoids from Apricot（Armeniaca vulgaris Lam）Leave[J]. J Shanxi Agr Sci, 45(2):258-262. [李济芳，李芳，金舒宁等，2017. 杏叶总黄酮提取工艺及抗氧化性研究[J]. 山西农业科学, 45(2):258-262.]

LI X, LIN J, GAO Y, et al, 2012. Antioxidant activity and mechanism of Rhizoma Cimicifugae[J]. Chem Cent J, 6(1):140.

MAI MM, 2006. Study on rapid propagation methods *Cercidiphyllum japonicum* Sieb.et zucc[D]. Sichuan Agr Univ. [麦苗苗，2006. 连香树快速扩繁途径的研究[D]. 四川农业大学.]

PAN ZH, HUANG SS, HUANG S，et al, 2016. Antioxidant activities of extracts and their main constituents of *Callicarpa nudiflora* [J]. Guihaia, 36(09): 1107-111. [潘争红，黄思思，黄胜等，2016. 裸花紫珠提取物及其主要成分抗氧化活性研究[J]. 广西植物, 36(09):1107-111.]

QI JH, YAO ZY, WANG LH, 2012. Comparison of antioxidant activities of crude pigments extracted from chestnut shell by ethanol and alkali[J]. Sci Technol Food Ind, 33(9):104-107. [戚建华，姚增玉，王力华，2012. 醇提和碱提板栗壳色素粗提物抗氧化活性比较研究[J]. 食品工业科技, 33(9):104-107.]

QUAN MP, ZHENG CP, MA TT, et al, 2016. Study on antioxidant and anticancer activity of

Rubia cordifolia L [J]. J The Chin Cereals Oils Assoc, 31(04):89-93. [权美平，郑翠平，马婷婷等，2016. 茜草精油抗氧化及抗癌活性研究[J]. 中国粮油学报, 31(04):89-93.]
REN QR, WANG YN, WANG Y, et al, 2017. In vitro antioxidant activity and antitumor activity of total flavonoids from *Elsholtzia densa* Benth[J]. Nat Pro Res Dev, (1):14-21. [任秋蓉，王亚男，王玥等，2017. 密花香薷总黄酮体外抗氧化及抗肿瘤活性研究[J]. 天然产物研究与开发, (1):14-21.]
SHI WQ, HE DP, XUE YL, 2012. Study on antioxidation of six kinds of chinese herbal medicine extracts and ethanol extracts to oil[J]. Agr Mach, (4):58-61. [史文青，何东平，薛雅琳，2012. 六种中草药水提取液和醇提取液对油脂的抗氧化研究[J]. 农业机械, (4):58-61.]
SUN GD, HUO JH, WANG GL, et al, 2017. Identification and characterization of chemical constituents in Cortex Juglandis Mandshuricae based on UPLC-Q-TOF/MS[J]. Chin Trad Herbal Drugs, 48(4):657-667. [孙国东，霍金海，王改丽等，2017. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的核桃楸皮成分分析[J]. 中草药, 48(4):657-667.]
SUN GD, HUO JH, WANG GL, et al, 2017. Identification and characterization of chemical constituents in leaves of *Juglans mandshurica* based on UPLC-Q-TOF/MS[J]. J Chin Med Mat, 40(5). [孙国东，霍金海，王改丽等，2017. 基于 UPLC-Q-TOF/MS 技术的胡桃楸叶化学成分分析[J]. 中药材, 40(5).]
TANG J, WANG Q, BAI X, et al, 2011. Study on ultrasound-assisted extraction of *Cucurbitaceae melo* var. *saccharinus naud.*seed oil and its fatty acid composition analysis[J]. J Xinjiang Univ (Nat Sci Ed), 28(2):226-229. [唐军，王强，白希等，2011. 超声辅助提取伽师瓜籽油工艺及其脂肪酸成分研究[J]. 新疆大学学报(自然科学版), 28(2):226-229.]
TANG JY, YAN MQ, QI FF, et al, 2017. Study on optimum extraction of total flavones in dendrobium officinale flower and its antioxidant activity in vitro[J]. J Zhejiang Chin Med Univ, (3):235-242. [唐静月，颜美秋，齐芳芳等，2017. 铁皮石斛花总黄酮提取工艺优化及体外抗氧化活性研究[J]. 浙江中医药大学学报, (3):235-242.]
WANG FY, HAN L, SONG YH, 2016. UPLC/Q-TOF-MS based rapid analysis and identification of chemical composition of *Jasminum elongatum*(Bergius) Willd[J]. J Guangdong Pharm Univ, 32(1):55-60. [王凤云，韩亮，宋雨鸿，2016. UPLC/Q-TOF-MS 技术快速鉴定瑶药别旁茶提取物的化学成分[J]. 广东药科大学学报, 32(1):55-60.]
WANG JR, DUAN JA, ZHOU RH, 1999. Chemical constituents from the bark of *Cercidiphyllum japonicum*[J]. J Plant Ecol (Engl), 41(2):209-212. [王静蓉，段金廒，周荣汉，1999. 连香树树皮化学成分的研究[J]. 植物生态学报(英文版), 41(2):209-212]
WANG Q, 2015. The study on antioxidant activities of kaempferol sulfonate derivatives in vitri and vivo[D]. Southwest Univ. [王勤，2015. 山萘酚磺化衍生物体内外抗氧化活性研究[D]. 西南大学.]
WEN PF, PENG Y, 2017. Research advances on antioxidant mechanism of plant essential oil[J]. Feed Ind, (2):40-45. [温朋飞，彭艳，2017. 植物精油抗氧化作用机制研究进展[J]. 饲料工业, (2):40-45.]
XIONG HP, YANG WL, ZHANG YS， et al, 2001. Research progress of natural plant antioxidants[J]. Progr Vet Med, 13(5):75-79. [熊皓平，杨伟丽，张友胜等，2001. 天然植物抗氧化剂的研究进展[J]. 天然产物研究与开发, 13(5):75-79.]
YAO LF, LI HY, 2005. Endangered plant and its artificial breeding of *Cercidiphyllum japonicum*[J]. For Sci Technol, (05):21-22. [姚连芳，李宏瀛，2005. 濒危植物连香树及其人工繁育[J]. 林业实用技术, (05):21-22.]

YUAN BG, HE QL, YIN DD， et al, 2011. Antioxidant activities of *Rehmannia glutinosa* extracts[J]. J Northwest A & F Univ (Nat Sci ed), (3):137-140. [袁保刚，何全磊，尹丹丹等，2011. 生地黄提取物的抗氧化活性研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, (3): 137-140.]
YUAN LJ, 2008. Tissue culture and rapid propagation of rare and precious species Cercidiphyllum japonicum[D]. Henan Agr Univ. [袁丽洁, 2008. 珍稀植物连香树组织培养技术体系研究[D]. 河南农业大学.]
ZHANG ZS, GUO Q, GAO YF， et al, 2017. Progress in the industrialization of natural antioxidants[J]. Food Res Dev, 38(7):206-209. [张泽生，郭擎，高云峰等，2017. 天然抗氧化剂的产业化进展[J]. 食品研究与开发, 38(7):206-209]